

НАСТАВНО-НАУЧНОМВЕЋУ ФАРМАЦЕУТСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На седници Наставно-научног већа Фармацеутског факултета Универзитета у Београду, одржаној 21. јуна 2018. године, на основу члана 94. Статута Фармацеутског факултета у Београду, донета је одлука о именовану Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под насловом: *Моделовање утицаја молекулске структуре и параметара хроматографског система на понашање анализата у хаотропној хроматографији* кандидата **МАГ. ФАРМ. ЈЕЛЕНЕ ЧОЛОВИЋ.**

Израда ове докторске дисертације одобрена је на седници Већа научних области медицинских наука Универзитета у Београду, одржаној 29. марта 2016. године.

Комисија у саставу:

1. **Др Анђелија Маленовић**, ванредни професор – ментор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
2. **Др Славица Ерић**, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
3. **Др Марко Калинић**, научни сарадник
Тотиент д.о.о.
4. **Др Ана Калинић**, научни сарадник
Славиамед д.о.о.
5. **Др Јанис Дотсикас**, доцент
Универзитет у Атени – Фармацеутски факултет

прочитала је завршену докторску дисертацију, прегледала комплетну документацију и подноси следећи *Извештај*.

Београд, 09. јула 2018.

ванр. проф. Анђелија Маленовић, ментор

ИЗВЕШТАЈ

А. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација под насловом *Моделовање утицаја молекулске структуре и параметара хроматографског система на понашање анализата у хаотропној хроматографији* написана је на 160 страна, формата А4, уз кратак Резиме на српском и енглеском језику. Дисертацију чини 6 поглавља: *Увод, Циљеви истраживања, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература*. На крају рада налази се списак публикованих/саопштених радова који представљају публиковане резултате из ове дисертације, кратка биографија кандидата и потписане изјаве кандидата о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије и коришћењу докторске дисертације. У дисертацији се налази 30 слика, 18 табела и 99 литературних навода.

Поглавље *Увод* се састоји из пет делова (*Јон-интеракциона хроматографија у аналитици једињења са базним функционалним групама, Ретенциони механизми у јон-интеракционој хроматографији, Утицај параметара система на хроматографско понашање анализата у хаотропној хроматографији, Моделовање ретенционог понашања у системима јон-интеракционе хроматографије, Моделовање облика пика*) и написано је на 33 стране. Сваки део поглавља *Увод* садржи информације које су од значаја за предмет проучавања ове докторске дисертације.

У првом делу *Увода* описани су проблеми који се јављају приликом анализе супстанци са базним функционалним групама у *RP-HPLC* системима и могућност успешног превазилажења ових проблема додатком јон-интеракционих агенаса у мобилну фазу. Објашњене су разлике између јон-пар и хаотропне хроматографије као два подтипа јон-интеракционе хроматографије. У следећем делу наведене су и описане термодинамичке равнотеже које имају највећи утицај на ретенцију анализата у јон-интеракционој хроматографији. Такође је описано и својство хаотропних агенаса да се адсорбују на површину стационарне фазе и формирају електрични двослој. У трећем делу дат је преглед и описан ефекат најзначајнијих хроматографских фактора који утичу на ретенцију анализата у системима хаотропне хроматографије: природа и концентрације хаотропног агенса, природа и садржај органског модификатора у мобилној фази, рН вредност мобилне фазе, јонска јачина мобилне фазе, хидрофобност стационарне фазе и структурне карактеристике анализата.

Четврти део *Увода* посвећен је моделовању ретенционог понашања у системима јон-интеракционе хроматографије. Најпре је описан историјски развој теоријских модела у јон-пар хроматографији, а потом и у системима хаотропне хроматографије. Наведене су карактеристике и недостаци стехиометријских термодинамичких модела који су водили каразвоју проширеног термодинамичког модела који сагледава ретенцију анализата и са стехиометријског и са термодинамичког аспекта. Поред теоријских модела, у овом делу су описани и емпиријски модели: модели добијени хеметријским приступом и модели квантитативног односа структуре и ретенционог

понашања. Описани су општи принципи моделовања хеометријским приступом и методологијом експерименталног дизајна, а посебно су објашњене врсте експерименталног дизајна које су коришћене у овој дисертацији: централни композициони дизајн и *D*-оптимални дизајн. Приказан је процес развоја и валидације модела применом методологије квантитативног односа структуре и ретенционог понашања.

У последњем делу приказани су математички модели који се користе за описивање облика пика и предвиђање ретенционог понашања анализата. Описан је полиномски-модификован Гаусов модел који се успешно примењује за описивање асиметричних пикова у системима мицеларне хроматографије. Поред њега, описана је методологија праћења промене узлазног и силазног дела пика и њена примена за предвиђање облика пика, карактеристика стационарне фазе и кинетике процеса који се на њој дешавају.

Поглавље *Циљеви рада* написано је на две стране и у њему се сажето наводе четири циља. Као **први циљ** дефинисано је систематично испитивање најзначајнијих хроматографских параметара на ретенционо понашање структурно разноврсног сета од 34 супстанце са базним функционалним групама у системима хаотропне хроматографије. Планирано је разматрање утицаја рН вредности мобилне фазе на адсорпцију ацетонитрила и натријум хексафлуорофосфата, који је у овој студији коришћен као хаотропни агенс. Поред тога, планиран је развој емпиријског модела који узима у обзир и молекулске дескрипторе и параметре система са циљем идентификације структурних карактеристика анализата које условљавају ретенционо понашање у системима хаотропне хроматографије.

Други циљ је подразумевао разграничавање утицаја јонске јачине и рН вредности мобилне фазе на ретенционо понашање потпуно протонованих анализата са базним функционалним групама. Планирано је извођење експеримената у два сета: у једном да се јонска јачина мења са додатком хаотропног агенса и адитива за подешавање рН вредности, а у другом да се накнадно додаје одговарајућа количина натријум хлорида у циљу одржавања константе јонске јачине. Поред тога, планирано је испитивање утицаја јонске јачине на рН зависне промене у адсорпцији натријум хексафлуорофосфата. Циљ је био и применити проширени термодинамички модел како би се квантификовао утицај јонске јачине и рН вредности мобилне фазе на ретенцију. Потом је планиран развој емпиријског модела методом вишеструке линеарне регресије како би се добили коефицијенти са јасним физичким значењем и идентификовали процеси који условљавају хроматографско понашање у системима хаотропне хроматографије.

Трећи циљ био је тестирање могућности полиномски-модификованог Гаусовог модела да опише и предвиди промене у облику хроматографског пика у системима хаотропне хроматографије на примеру амлодипина и његове нечистоће А. Планиран је развој нове тростепене процедуре за израчунавање коефицијената модела. Верификацију предложене процедуре требало је извршити поређењем

експериментално добијеног хроматограма и хроматограма симулираног предложеном процедуром под истим експерименталним условима.

Четврти циљ је обухватао развој методе за процену перформанси модификованих стационарних фаза у хаотропној хроматографији, а која се заснива на методологији експерименталног дизајна, индиректном моделовању и полиномски-модификованом Гаусовом моделу. Перформансе стационарних фаза треба испитати и применом приступа праћења промена ширина узлазног и силазног дела пика. Планирано је да се погодност предложене методе испита на примеру респеридона и његове три нечистоће, *Zorbax Eclipse XDB* и *Zorbax Extend* стационарним фазама, а да се као експериментални дизајн користи *D*-оптимални дизајн како би се истовремено испитао утицај и квалитативних и квантитативних хроматографских фактора.

Поглавље *Експериментални део* написано је на 40 страна. У оквиру овог дела приказани су уређаји, реагенси, софтверски системи и стандардне супстанце коришћене приликом израде дисертације. Детаљно су описани протоколи и наведени хроматографски услови под којима су извођени експерименти за испитивање ретенционог понашања анализата, одређивање површине стационарне фазе, одређивање адсорпционих изотерми ацетонитрила и натријум хексафлуорофосфата. Описан је поступак израчунавања молекулских дескриптора, развој и валидација QSRR модела.

Поглавље *Резултати и дискусија* написано је на 67 страна. У овом поглављу приказани сусви резултати добијени експерименталним истраживањем кроз 11 табела и 19 слика. Дата је детаљна дискусија резултата уз теоријску и литературну подршку. Детаљније о овом поглављу у делу Б овог Извештаја.

Поглавље *Закључак* написано је на три стране и садржи све закључке у складу са постављеним циљевима.

Поглавље *Литература* написано је на 12 страна и садржи 99 библиографских јединица.

Б. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У првом делу *Резултата и дискусије* приказано је систематично испитивање утицаја садржаја ацетонитрила у мобилној фази, концентрације натријум хексафлуорофосфата у воденој фази, рН вредности водене фазе на ретенционо понашање 34 структурно разноврсне активне супстанце у системима хаотропне хроматографије. Показано је да са порастом рН вредности водене фазе од 2,00 до 4,00 долази до продужења ретенције анализата са базним функционалним групама независно од њиховог јонизационог стања. Разматрањем адсорпционог понашања ацетонитрила и натријум хексафлуорофосфата дошло се до закључка да се при вишим рН вредностима адсорбује већа количина ацетонитрила, која условљава већу адсорпцију хаотропног агенса и последично више вредности електростатског потенцијала, а све то доводи до дужег задржавања анализата на стационарној фази. Применом *support vector machine* алгоритма и приступа мешовитог моделовања развијен је емпиријски модел добрих предиктивних карактеристика, а који укључује молекулске дескрипторе и параметре хроматографског система са циљем идентификације и структурних карактеристика анализата и хроматографских фактора који имају највећи утицај на ретенцију анализата у системима хаотропне хроматографије. Тумачењем молекулских дескриптора, долазимо до закључка да су просторни распоред наелектрисања унутар молекула и његова комплементарност са електричним двослојем структурне карактеристике које највише доприносе ретенционом понашању анализата у системима хаотропне хроматографије. Резултати овог дела истраживања објављени су у: **J. Čolović, M. Kalinić, A. Vemić, S. Erić, A. Malenović, Investigation into the phenomena affecting the retention behavior of basic analytes in chaotropic chromatography: joint effects of the most relevant chromatographic factors and analytes' molecular properties, J. Chromatogr. A 1425 (2015) 150-157 (M21).**

Други део *Резултата и дискусије* посвећен је проучавању ефекта јонске јачине на рН зависне промене у системима хаотропне хроматографије описаним у првом делу *Резултата и дискусије*. Са тим циљем изведена су два сета експеримената: један у ком је јонска јачина варирана у зависности од количине додатог хаотропног агенса и адитива за подешавање рН вредности мобилне фазе и други сет у коме је накнадно додаван натријум хлорид са циљем одржавања константне јонске јачине. Примећено је да се ретенциона времена продужавају са порастом рН вредности мобилне фазе од 2,00 до 4,00 у оба сета експеримената, али у сету са константном јонском јачином та разлика је мање изражена. Одређивањем адсорпционих изотерми хаотропног агенса запажа се мање изражена адсорпција хексафлуорофосфатног анијона у сету са константном јонском јачином. Проширеним термодинамичким приступом показано је да је јонско спаривање на стационарној фази значајно само у системима са варијабилном јонском јачином, док у системима са константном јонском јачином ове интеракције нису значајне због конкуренције јона натријума и протонизованог анализата за везивање са адсорбованим хаотропним јоном. Методом вишеструке линеарне регресије развијен је емпиријски модел добрих предиктивних карактеристика. Овај модел узима у разматрање и молекулске дескрипторе и параметре система, а његови коефицијенти имају јасно физичко значење. Поређењем коефицијената овог модела потврђено је да

pH зависне промене у ретенционом понашање потичу од разлика у интеракцијама анализата са развијеним електричним двослојем. Резултати из овог дела докторске дисертације објављени су у: **J. Čolović, M. Kalinić, A. Vemić, S. Erić, A. Malenović, Influence of the mobile phase and molecular structure parameters on the retention behavior of protonated basic solutes in chaotropic chromatography, J. Chromatogr. A 1511 (2017) 68-76 (M21).**

У наредном делу *Резултата и дискусије* тестирана је погодност примене полиномски-модификованог Гаусовог модела за предвиђање хроматографског понашања алмодипина и његове нечистоће А у системима хаотропне хроматографије. Предложена је тростепена процедура за израчунавање коефицијената модела која се заснива на примени методологије експерименталног дизајна и индиректном моделовању. Погодност примене предложене процедуре потврђена је веома добрим слагањем експериментално добијеног хроматограма и хроматограма предвиђеног предложеном процедуром под експерименталним условима дефинисаним методом претраге чворова мреже. Овирезултати су објављени у: **J. Čolović, A. Vemić, N. Kostić, A. Malenović, M. Medenica, Testing the capability of a polynomial-modified gaussian model in the description and simulation of chromatographic peaks of amlodipine and its impurity in ion-interaction chromatography, J. Sep. Sci. 37 (2014) 1797–1804 (M21).**

Последњи део *Резултата и дискусије* односи се на развој процедуре за процену перформанси модификованих стационарних фаза која се заснива на методологији експерименталног дизајна, индиректном моделовању, полиномски-модификованом Гаусовом моделу и приступу праћења промене ширине узлазног и силазног дела пика. Рисперидон и његове три нечистоће су одабране као модел супстанце, *Zorbax Eclipse XDB* и *Zorbax Extend* су представљале испитиване модификоване *RP C18* стационарне фазе, а *D*-оптимални експериментални дизајн је одабран за дефинисање експерименталног плана како би се истовремено проценио утицај и квалитативних и квантитативних хроматографских параметара. Поређењем хроматограма симулираног предложеном процедуром и експериментално добијеног хроматограма потврђена је погодност примене предложене процедуре да предвиди ретенционо понашање анализата у овим системима при варирању квалитативних и квантитативних фактора, као и када анализи мењају редослед елуирања. Применом приступа праћења промена ширине узлазног и силазног дела пика и графика полуширине пикова потврђене су боље перформансе стационарне фазе код које су резидуалне силанолне групе модификоване малим триметилсилил групама него стационарне фазе где су стерно заштићене бидентатним силанолним мостовима. Резултати овог дела истраживања објављени су у: **J. Čolović, M. Rmandić, A. Malenović, Characterization of bonded stationary phase performance as a function of qualitative and quantitative chromatographic factors in chaotropic chromatography, Anal Bioanal Chem (2018) <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1122-7> (M21).**

В. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Резултати испитивања изведених у оквиру дисертације допуњавају податке који се могу наћи у релевантним литературним изворима или чак нису могли бити проверени у публикованим изворима, те се сматрају доприносом истраживачког рада кандидаткиње.

У литератури се могу наћи подаци о испитивању утицаја природе и концентрације хаотропног агенса, природе и садржаја органског модификатора, хидрофобности стационарне фазе и јонске јачине мобилне фазе на понашање анализата у хаотропном хроматографском систему [1-8]. Ефекат рН вредности мобилне фазе на ретенцију базних анализата у овим системима до сада је проучаван само кроз утицај на промену јонизационог стања анализата са променом рН вредности [9]. Развијени су бројни теоријски и емпиријски модели у циљу објашњавања ретенционих механизма у јон-интеракционој хроматографији [10-18]. Полиномски-модификован Гаусов модел успешно је примењен за описивање асиметричних пикова у мицеларној хроматографији [19]. Приступ праћења промена ширина узлазног и силазног дела пика примењен је не само за предвиђање хроматографског понашања, већ и за процену карактеристика и кинетике процеса стационарне фазе [20, 21].

Дакле, у овој дисертацији је по први пут, на сету структурно разноврсних анализата, описан утицај рН вредности мобилне фазе на ретенцију анализата са базним функционалним групама независно од њиховог јонизационог стања. Применом методе најмање пертурбације базне линије и фронталне анализе показан је и ефекат рН вредности мобилне фазе на адсорпцију ацетонитрила и натријум хексафлуорофосфата у испитиваним системима. Такође су идентификовани појединачни доприноси јонске јачине и рН вредности мобилне фазе на ретенционе процесе у системима са додатком хаотропног агенса. Проширеним термодинамичким приступом показано је да јонско спаривање на стационарној фази значајно утиче на ретенцију у системима са варијабилном јонском јачином, док у системима са константном јонском јачином ове интеракције нису значајне због конкуренције додатог јона натријума и протонованог анализата за везивање са адсорбованим хаотропним јоном. Приступом мешовитог моделовања и *support vector machine (SVR)* алгоритма, односно методом вишеструке линеарне регресије развијени су емпиријски модели који разматрају утицај и хроматографских параметара и молекулске структуре анализата на основу којих су идентификоване структурне карактеристике које имају најзначајнији утицај на ретенцију анализата у хаотропној хроматографији. По први пут је примењен полиномски-модификован Гаусов модел у системима хаотропне хроматографије и предложена је нова тростепена процедура за израчунавање коефицијената овог модела. Такође је развијена процедура за процену перформанси модификованих стационарних фаза која се заснива на методологији експерименталног дизајна, индиректном моделовању, полиномски-модификованом Гаусовом моделу и приступу праћења промена ширина узлазног и силазног дела пика.

Може се рећи да резултати ове докторске дисертације почивају на детаљном прегледу доступних литературних података уз употребу адекватних метода, чијим је упоредним тумачењем дат јасан допринос у проучавању система хаотропне хроматографије.

- [1] Y. Kazakevich, R. LoBrutto, R. Vivlecchia, Reversed-phase high-performance liquid chromatography behavior of chaotropic counteranions, *J. Chromatogr. A* 1064 (2005) 9–18.
- [2] L. Pan, R. LoBrutto, Y.V. Kazakevich, R. Thompson, Influence of inorganic mobile phase additives on the retention, efficiency and peak symmetry of protonated basic compounds in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1049 (2004) 63–73.
- [3] R. LoBrutto, A. Jones, Y. Kazakevich, Effect of counter-anion concentration on retention in high-performance liquid chromatography of protonated basic analytes, *J. Chromatogr. A* 913 (2001) 189–196.
- [4] I.L. Kazakevich, N.H. Snow, Adsorption behavior of hexafluorophosphate on selected bonded phases, *J. Chromatogr. A* 1119 (2006) 43–50.
- [5] A. Vemić, B. Jančić-Stojanović, I. Stamenković, A. Malenović, Chaotropic agents in liquid chromatographic method development for the simultaneous analysis of levodopa, carbidopa, entacapone and their impurities, *J. Pharmaceut. Biomed.* 77 (2013) 9–15.
- [6] A. Vemić, T. Rakić, A. Malenović, M. Medenica, Chaotropic salts in liquid chromatographic method development for the determination of pramipexole and its impurities following quality-by-design principles, *J. Pharmaceut. Biomed.* 102 (2015) 314–320.
- [7] J. Flieger, Effect of mobile phase composition on the retention of selected alkaloids in reversed-phase liquid chromatography with chaotropic salts, *J. Chromatogr. A* 1175 (2007) 207–216.
- [9] J. P. Smuts, X.-Q. Hao, Z. Han, C. Parpia, M.J. Krische, D.W. Armstrong, Enantiomeric separations of chiral sulfonic and phosphoric acids with barium-doped cyclofructan selectors via an ion interaction mechanism, *Anal. Chem.* 86 (2014) 1282–1290.
- [9] R. LoBrutto, A. Jones, Y.V. Kazakevich, H. M. McNair, Effect of the eluent pH and acid modifiers in high-performance liquid chromatography retention of basic analytes, *J. Chromatogr. A* 913 (2001) 173–187.
- [10] T. Cecchi, F. Pucciarelli, P. Passamonti, Extended thermodynamic approach to ion interaction chromatography, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2632–2639.
- [11] T. Cecchi, F. Pucciarelli, P. Passamonti, Ion-interaction chromatography of neutral molecules, *Chromatographia* 53 (2001) 27–34.

- [12] J.H. Knox, R.A. Hartwick, Mechanism of ion-pair liquid chromatography of amines, neutrals, zwitterions and acids using anion hetaerons, *J. Chromatogr.* 204 (1981) 3-21.
- [13] T. Cecchi, P. Passamonti, Retention mechanism for ion-pair chromatography with chaotropic reagents, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1789–1797.
- [14] T. Cecchi, P. Passamonti, Erratum to “Retention mechanism for ion-pair chromatography with chaotropic reagents” [*J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1789–1797], *J. Chromatogr. A*, 1216 (2009), 5164.
- [15] A. Vemić, A. Malenović, M. Medenica, The influence of inorganic salts with chaotropic properties on the chromatographic behavior of ropinirole and its two impurities, *Talanta* 123 (2014) 122–127.
- [16] A. Vemić, M. Kalinić, S. Erić, A. Malenović, M. Medenica, The influence of salt chaotropicity, column hydrophobicity and analytes' molecular properties on the retention of pramipexole and its impurities, *J. Chromatogr. A* 1386 (2015) 39-46.
- [17] J. Flieger, R. Świeboda, Application of chaotropic effect in reversed-phase liquid chromatography of structurally related phenothiazine and thioxanthene derivatives, *J. Chromatogr. A* 1192 (2008) 218–224.
- [18] J. Flieger, Application of perfluorinated acids as ion-pair reagents for reversed-phase chromatography and retention-hydrophobicity relationship studies of selected β -blockers, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 540–549.
- [19] J.R. Torres Lapasio, J. J. Baeza-Baeza, M.C.Garcia-Alvarez-Coque, A Model for the Description, Simulation, and Deconvolution of Skewed Chromatographic Peaks, *Anal.Chem.*, 69 (1997) 3822–3831.
- [20] J.J. Baeza-Baeza, M.J. Ruiz-Ángel, M.C. García-Álvarez-Coque, S. Carda-Broch, Half-width plots, a simple tool to predict peak shape, reveal column kinetics and characterize chromatographic columns in liquid chromatography: state of the art and new results, *J. Chromatogr. A* 1314 (2013) 142-153.
- [21] J.J. Baeza-Baeza, S. Pous-Torres, J.R. Torres-Lapasio, M.C. García-Álvarez-Coque, Approaches to characterise chromatographic column performance based on global parameters accounting for peak broadening and skewness, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2147–2157.

Г. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Радови објављени у часописима међународног значаја

1. **J. Čolović**, M. Kalinić, A. Vemić, S. Erić, A. Malenović, Investigation into the phenomena affecting the retention behavior of basic analytes in chaotropic chromatography: joint effects of the most relevant chromatographic factors and analytes' molecular properties, *J. Chromatogr. A* 1425 (2015) 150-157. (M21)
2. **J. Čolović**, M. Kalinić, A. Vemić, S. Erić, A. Malenović, Influence of the mobile phase and molecular structure parameters on the retention behavior of protonated basic solutes in chaotropic chromatography, *J. Chromatogr. A* 1511 (2017) 68-76. (M21)
3. **J. Čolović**, A. Vemić, N. Kostić, A. Malenović, M. Medenica, Testing the capability of a polynomial-modified gaussian model in the description and simulation of chromatographic peaks of amlodipine and its impurity in ion-interaction chromatography, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1797–1804. (M21)
4. **J. Čolović**, M. Rmandić, A. Malenović, Characterization of bonded stationary phase performance as a function of qualitative and quantitative chromatographic factors in chaotropic chromatography, *Anal Bioanal Chem* (2018) <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1122-7> (M21)

Радови саопштени на скуповима међународног и националног значаја штампани у изводу

1. **J. Čolović**, M. Kalinić, A. Vemić, S. Erić, A. Malenović, Novel insights into pH-dependent retention behavior of analytes in chaotropic chromatography, *The 39th Symposium: Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds*, Katowice–Szczyrk, Poland, 2016.
2. **J. Čolović**, A. Malenović, Application of a polynomial modified Gaussian model and a half-width plot approach to describe chromatographic peaks and reveal column performance in chaotropic chromatography, *The 4^{0th} Symposium: Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds*, Katowice–Szczyrk, Poland, 2017.
3. А. Вемих, **Ј. Чоловић**, Н. Костић, А. Маленовић, Тестирање способности модификованог Гаусовог модела полинома за описивање и симулацију хроматографских пикова амлодипина и његове нечистоће у јон-интеракционој хроматографији, *VI конгрес фармацеута Србије са међународним учешћем*, Београд, Србија 2014.

Усмена излагања на скуповима међународног значаја штампани у изводу

1. A. Malenović, **J. Čolović**, Marko Kalinić, Ana Vemić, Slavica Erić, Investigation into the phenomena affecting the retention behavior of basic analytes in chaotropic chromatography *The 39th Symposium: Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds*, Katowice–Szczyrk, Poland, 2016.
2. A. Malenović, **J. Čolović**, Novel insights into the pH-dependent retention behavior of analytes in chaotropic chromatography, *The 40th Symposium: Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds*, Katowice–Szczyrk, Poland, 2017.

Е. ЗАКЉУЧАК – ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Резултати ове докторске дисертације из научне области Аналитика лекова представљају нова или допуњена сазнања која доприносе бољем разумевањусистемима хаотропне хроматографије. Детаљним истраживањем утицаја најрелевантнијих параметара хроматографског система на ретенционо понашање сета структурно разноврсних активних супстанци показано је да рН вредност мобилне фазе утиче на термодинамичке равнотеже у системима хаотропне хроматографије и да се до сада неоправдано проучавао само утицај овог фактора на јонизационо стање анализата у хроматографским системима модификованим додатком хаотропног агенса. По први пут је експериментално показано да са повећањем рН вредности мобилне фазе долази до интензивније адсорпције ацетонитрила и хаотропног агенса натријум хексафлуорофосфата на површину стационарне фазе, као и последичног развоја виших вредности електростатског потенцијала. Приступом мешовитог моделовања развијен је регресиони модел у који су укључена три фактора мобилне фазе и четири молекулска дескриптора и којим је недвосмислено утврђено да просторни распоред наелектрисања унутар молекула и његова комплементарност са електричним двослојем највише доприносе ретенцији анализата у системима хаотропне хроматографије. Показано је да су рН-зависне промене ретенције анализата и адсорпције хаотропног агенса мање изражене у системима са константном јонском јачином услед конкуренције додатог натријумовог јона и протонованог анализата за везивање са адсорбованим хаотропним јоном. Развијен је нови емпиријски регресиони модел који истовремено разматра параметре молекулске структуре анализата и параметре хроматографског система. Коефицијенти овог модела имају јасно физичко значење, тако да је њиховим поређењем потврђено да рН-зависне промене ретенционог понашања у системима са варијабилном јонском јачином потичу од разлика у интеракцијама са развијеним електричним двослојем. Демонстрирана је погодност примене полиномски-модификованог Гаусовог модела и у овој дисертацији предложене тростепене процедуре за предвиђање хроматографског понашања базних анализата у системима хаотропне хроматографије. Развијена је и процедура за процену перформанси модификованих стационарних фаза која се заснива на експерименталном дизајну, индиректном моделовању, полиномски-модификованом Гаусовом моделу и приступу праћења примене ширине узлазног и силазног дела пика.

На основу резултата приказаних у овој докторској дисертацији, као и четири објављена научна рада у водећим међународним часописима може се закључити да ова докторска дисертација представља значајан научни допринос у разјашњавању процеса који су у основи ретенционог понашања у системима хаотропне хроматографије.

Комисија предлаже члановима Наставно-научног већа Фармацеутског факултета Универзитета у Београду да прихвате позитивну оцену завршене докторске дисертације под насловом *Моделовање утицаја молекулске структуре и параметара хроматографског система на понашање анализата у хаотропној хроматографији* кандидата **МАГ. ФАРМ. ЈЕЛЕНЕ ЧОЛОВИЋ**.

*Комисија за оцену и одбрану
завршене докторске дисертације кандидата
маг. фарм. Јелене Чоловић*

Др Анђелија Маленовић, ванредни професор – ментор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Србија

Др Славица Ерић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Србија

Др Марко Калинић, научни сарадник
Тотиент д.о.о., Србија

Др Ана Калинић, научни сарадник
Славиамед д.о.о., Србија

Dr Yannis Dotsikas, доцент
Универзитет у Атени – Фармацеутски факултет, Грчка

Београд, 9. јул 2018.